

PRIORITY DOCUMENT
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH
 RULE 17.1(a) OR (b)



| | |
|-------------------|-----|
| REC'D 30 JUN 2000 | |
| WIPO | PCT |

FR 00/1513

BREVET D'INVENTION

4

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **06 JUIN 2000**

Pour le Directeur général de l'Institut
 national de la propriété industrielle
 Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
 NATIONAL DE
 LA PROPRIÉTÉ
 INDUSTRIELLE

SIEGE
 26 bis, rue de Saint Petersburg
 75800 PARIS Cédex 08
 Téléphone : 01 53 04 53 04
 Télécopie : 01 42 93 59 30



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **3 JUIN 1999**
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **9907011**
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT **75 INPI PARIS**
DATE DE DÉPÔT **03 JUIN 1999**

1 **NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE**

GROSSET-FOURNIER & DEMACHY
20, rue de Maubeuge
F-75009 PARIS

2 **DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle**

☒ brevet d'invention ☐ demande divisionnaire
☐ certificat d'utilité ☐ transformation d'une demande
de brevet européen

☒ demande initiale
☒ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent **IFB99INSEPIT** références du correspondant **0142 81 0958** téléphone
date

Établissement du rapport de recherche

☐ différé ☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance ☐ oui ☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

**FRAGMENTS PROTEIQUES POLYPEPTIDIQUES, LEUR OBTENTION ET LEURS UTILISATIONS
NOTAMMENT EN VACCINATION**

3 **DEMANDEUR (S)** n° SIREN code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

1) **BIOVECTOR THERAPEUTICS**

2) **INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE
INSERM**

Forme juridique

Société Anonyme

Nationalité (s) **1 et 2 Française**

Adresse (s) complète (s)

1) **Chemin du Chêne Vert, BP 169, F-31676 LABEGE CEDEX**

Pays

FRANCE

2) **101, rue de Tolbiac, F-75854 PARIS CEDEX 13**

FRANCE

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

4 **INVENTEUR (S)** Les inventeurs sont les demandeurs ☐ oui ☒ non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 **RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES** ☐ requise pour la 1ère fois ☐ requise antérieurement au dépôt ; joindre copie de la décision d'admission

6 **DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE**

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 **DIVISIONS** antérieures à la présente demande n° date n° date

8 **SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE**
(nom et qualité du signataire)

Charles DEMACHY
Mandataire
422.5/PP-170

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

99 07012

TITRE DE L'INVENTION :

FRAGMENTS PROTEIQUES POLYPEPTIDIQUES, LEUR OBTENTION ET LEURS UTILISATIONS NOTAMMENT EN VACCINATION.

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE
ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (I.N.S.E.R.M.)
101, rue de Tolbiac
F - 75654 PARIS CEDEX 13**

**BIOVECTOR THERAPEUTICS
Chemin du Chêne Vert, B.P.169
31676 LABEGE CEDEX**

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

**CHOPPIN, Jeannine
45, rue Richard Gardebled
93110 ROSNY-SOUS-BOIS**

**BOURGAULT VILLADA, Isabelle
4, rue Joseph Granier
75007 PARIS**

**GUILLET, Jean-Gérard
9 Bis, rue Geoffroy Marie
75009 PARIS**

**CONNAN, Francine
21, rue du Progrès
95170 DEUIL LA BARRE**

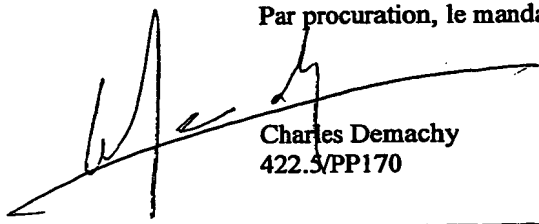
**FERRIES, Isabelle
18, rue des Reculettes
75013 PARIS**

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Paris, le 26 août 1999

Par procuration, le mandataire


**Charles Demachy
422.5/PP170**

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

| PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDEICATIONS OU PLANCHE(S) DE DESSIN | | | R.M.* | DATE DE LA CORRESPONDANCE | TAMPON DATEUR DU CORRECTEUR |
|---|--------------|------------|-------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Modifiée(s) | Supprimée(s) | Ajoutée(s) | | | |
| 19 à 22 | 23 à 28 | | X | 7/10/99 | J P M - 11 OCT. 1999 |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention « R.M. » (revendications modifiées).

FRAGMENTS PROTEIQUES POLYEPITOPIQUES, LEUR OBTENTION ET LEURS UTILISATIONS NOTAMMENT EN VACCINATION

5 La présente invention a pour objet des fragments protéiques polyépitopiques, leur procédé d'obtention, et leurs utilisations, notamment dans le domaine de la vaccination thérapeutique ou préventive.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation de fragments polyépitopiques d'une protéine déterminée pour la préparation de médicaments destinés
10 à la prévention ou au traitement de pathologies dans lesquelles ladite protéine est reconnue par le système immunitaire cellulaire.

Avantageusement, lesdits fragments polyépitopiques sont tels que leur acide aminé N-terminal correspond à l'acide aminé N-terminal de l'épitope situé en amont d'un ou plusieurs autres épitopes d'une région polyépitopique de ladite protéine, et leur
15 acide aminé C-terminal correspond à l'acide aminé C-terminal de l'épitope situé en aval du ou des épitopes susmentionnés de ladite région polyépitopique.

Ainsi, les fragments protéiques polyépitopiques susmentionnés de la présente invention correspondent avantageusement aux régions polyépitopiques d'une protéine déterminée, à savoir aux régions contenant plusieurs épitopes reconnus par les cellules
20 T en association avec les différentes molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), lesdites régions étant sélectionnées parmi celles ayant la caractéristique d'être dégradées *in vitro* en peptides plus courts par des protéasomes, tel que le protéasome 20S, lorsque le fragment protéique testé est mis en présence dudit protéasome, notamment selon la méthode détaillée suivante. Le fragment protéique (environ 75 µg
25 lorsqu'il s'agit d'un polypeptide d'environ 30 acides aminés) est incubé à 37°C avec environ 15µg de protéasome 20S (Calbiochem Ref 539150, La Jolla, CA, USA) dans 500 µl du tampon suivant : 20 mM Tris-HCl pH8, 0,5 mM EDTA et 0,035 % SDS. Des aliquots de 50 µl sont prélevés après des temps d'incubation de 24 et 48 heures, et sont analysés par chromatographie liquide haute pression (HPLC). Les produits de digestion
30 des protéasomes sont séparés par RP-HPLC (Perkin Elmer) en utilisant une colonne C18 et un gradient acétonitrile (de 0 à 100 % contenant 0,1 % d'acide trifluoroacétique, en 90 mn, taux d'élution 0,8 ml/mn). Les produits de clivage sont détectés à 214 nm par un détecteur à absorption (759A, Applied Biosystems).

Avantageusement les régions polyépitopiques définies ci-dessus possèdent la caractéristique de contenir des acides aminés hydrophobes.

Les différents épitopes de la région polyépitopique de la protéine déterminée, et délimitant les fragments protéiques polyépitopiques, sont avantageusement sélectionnés parmi les peptides ;

- se liant à une molécule déterminée du CMH, notamment à une molécule de type HLA déterminé, et ce jusqu'à des concentrations d'environ 10^{-6} M à environ 10^{-10} M en peptide pour des concentrations d'environ 10^{-7} M en molécule HLA, notamment dans les conditions décrites ci-après,

- et formant un complexe stable avec cette molécule du CMH, à savoir notamment un complexe dans lequel ledit peptide reste lié à ladite molécule pendant au moins environ 3 heures à 37°C.

A titre d'illustration, les épitopes susmentionnés de l'invention sont sélectionnés parmi les peptides susceptibles :

- d'une part de s'associer avec les molécules du CMH, notamment par mise en oeuvre de la méthode suivante :

. incubation (notamment pendant environ 2 heures à 25°C, puis environ 15 heures à 4°C) du peptide en présence de molécules du CMH, provenant de la lyse de cellules humaines ou animales, ou purifiées notamment par chromatographie d'affinité à partir de lignées cellulaires humaines ou animales,

. piégeage des complexes formés lors de l'étape précédente sur un support solide recouvert d'un premier anticorps, notamment monoclonal, reconnaissant spécifiquement les molécules du CMH dans leur conformation dépendante de leur liaison audit peptide,

. addition sur le support solide précédent d'un deuxième anticorps marqué, notamment par couplage à un marqueur radioactif, enzymatique ou fluorescent, ledit anticorps marqué reconnaissant spécifiquement soit les chaînes lourdes du CMH dans leur conformation dépendante de leur liaison au peptide, soit la chaîne légère du CMH ou la β 2-microglobuline se liant spécifiquement aux différentes chaînes lourdes du CMH dans leur conformation susmentionnée,

. détection, après rinçage du support solide, de l'éventuelle présence du deuxième anticorps marqué resté fixé sur le support solide, témoignant d'un effet d'association entre les molécules du CMH et le peptide étudié,

- et, d'autre part, de former un complexe avec lesdites molécules du CMH, dont la stabilité peut être évaluée par mise en oeuvre d'une méthode de suivi dans le temps de la liaison établie entre le peptide et les molécules du CMH, cette méthode étant avantageusement effectuée selon un protocole identique à la méthode précédente, mais dans laquelle l'étape d'incubation du peptide en présence des molécules du CMH sur le support solide recouvert dudit premier anticorps, est précédée par une étape préalable d'élimination du peptide libre susceptible d'être présent dans le milieu réactionnel, notamment par lavage du support solide, ladite étape d'incubation étant effectuée (avantageusement à une température de 37°C) pendant des temps variables de 1h, 3h, 5h, 24h et 48h.

Comme mentionné ci-dessus, les épitopes de l'invention doivent être reconnus par les cellules T en association avec les molécules du CMH et s'associer à ces dernières, notamment dans le cadre de la mise en oeuvre du test de reconnaissance décrit ci-dessus. Cette association peut être faible (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-5} M), intermédiaire (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} M), ou forte (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-9} M). Les peptides associés aux molécules du CMH dans le cadre de la présente invention sont de préférence susceptibles de se lier pendant au moins environ 3 heures auxdites molécules du CMH.

L'invention a plus particulièrement pour objet les épitopes (encore désignés peptides ci-dessus et ci-après) tels que décrits ci-dessus et caractérisés en ce qu'ils sont sélectionnés parmi ceux susceptibles :

- d'induire *in vitro* la cytolyse par des lymphocytes T cytotoxiques, de cellules cibles présentant à leur surface le peptide susmentionné associé aux molécules du CMH, lesdits lymphocytes T cytotoxiques étant avantageusement prélevés sur un patient atteint d'une pathologie dans laquelle est impliqué le peptide étudié,

- et d'induire *in vitro* la sécrétion de cytokines (ou interleukines) par les lymphocytes T cytotoxiques susmentionnés, notamment IL-2, IL-4 ou l'interféron γ .

Le cas échéant, les épitopes susmentionnés sont choisis parmi ceux capables d'induire *in vitro* l'apparition et la croissance de lymphocytes T cytotoxiques à partir de cellules humaines ou animales, notamment à partir de cellules mononucléées issues du

sang périphérique (PBMC), en présence de facteurs nécessaires à la croissance et la différenciation des cellules T cytotoxiques.

Les fragments protéiques polyépitopiques de l'invention sont davantage caractérisés en ce qu'ils sont susceptibles de contenir des épitopes CD4 reconnus par les cellules T auxiliaires en association avec les molécules du CMH de classe II, cette propriété favorisant l'induction et le maintien des cellules T CD8⁺ reconnaissant les épitopes compris dans lesdits fragments.

L'invention a plus particulièrement pour objet les fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(15)RPRKLPQLCTELQTTIHDILECVYCKQQL(44)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A11, A29, B7, B8, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 62, ou aux positions 46 et 67, ou aux positions 46 et 77 de la séquence peptidique de la protéine E6, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(46)RREVYDFAFRDLCIVYRDGNPYAVCDKCLKFY(77)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, A24, A29, B7, B27, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(80)ISEYRHYCYRLYGTTLQYQYNKPLCDLLI(108)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A3, A11, A24, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(118)CPEEKQRHLDKKQRFHNIRGRW(139)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24, B8, B18, B27, B35, B44, ou B51.

L'invention a également pour objet les fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 2 et 25 de la séquence peptidique de la protéine E7, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(2)GGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCY(25)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, B18, B35, B44, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la séquence peptidique de la protéine E7, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(44)QAEPDRAHYNIVTFCKK(60)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A3, A11, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la séquence peptidique de la protéine E7, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(79)LEDLLMGTLGIVCPICSQK(97)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, A29, ou B44.

L'invention concerne également les fragments polyépitopiques de la protéine p53 humaine, surexprimée dans de nombreux type de cancers, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 106 et 137, ou aux positions 102 et 137 de la séquence peptidique de la protéine p53, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(102)TYQGSYGFRLLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQL(137)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A24, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 149 et 169 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(149)STPPPGTRVRAMAIYKQSQHM(169)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A24, B27, B35, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 187 et 212, ou aux positions 187 et 220 de la séquence peptidique de la protéine p53, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(187)GLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVPY(220)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A24, B27, ou B44,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 226 et 243 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(226)GSDCTTIHYNMCMSSCM(243)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A24, ou B44,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 249 et 273 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(249)RPILTITLEDSSGNLLGRNSFEVR(273)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B27, B35, B44, ou B62.

L'invention a également pour objet les fragments polyépitopiques de la protéine Nef de HIV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 68 et 97 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(68)FPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL(97)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, B7, B8, B14, B35, B62, ou Cw8,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 116 et 145, ou aux positions 105 et 145 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(105)RRQDILDWYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWICYKL(145)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A24, A32, B7, B18, B27, B35, B37, B49, B57/58, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 180 et 203 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(180)VLEWRFD SRLAFHHVARELHPEY(202)

5 ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A3, B8, B35, ou B52.

L'invention a également pour objet les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

10 - par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

15 - par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

20 Par séquence dérivée par introduction d'une liaison rétro-inverso, il faut entendre tout analogue peptidique d'un fragment susmentionné, ledit analogue étant constitué d'une chaîne peptidique dans laquelle l'un au moins des résidus d'une part est lié à au moins un résidu voisin par une liaison -NH-CO-, et d'autre part, est de chiralité opposée à celle de ce même résidu aminoacyle dans la chaîne peptidique du peptide parent (à savoir du fragment susmentionné dont elle dérive).

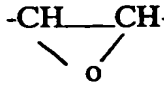
25 Par séquence dérivée par introduction d'une liaison rétro, il faut entendre tout analogue peptidique d'un fragment susmentionné, ledit analogue étant constitué d'une chaîne peptidique dans laquelle l'un au moins des résidus, est lié à au moins un résidu voisin par une liaison -NH-CO-, la chiralité de la totalité des résidus aminoacyles impliqués dans au moins une liaison -NH-CO- étant conservée par rapport aux résidus
30 correspondant de la chaîne peptidique du peptide parent.

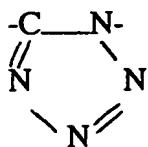
Il va de soi que les liaisons -CO-NH- et -NH-CO- doivent être prises en compte dans ce qui précède, dans le sens de la chaîne peptidique parente allant de l'extrémité aminoterminal (N-terminale) vers l'extrémité carboxyterminale (C-terminale).

Par "acide aminé protéinogénique", on entend, dans ce qui précède, tout acide aminé entrant dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel.

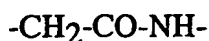
Par "acide aminé non protéinogénique", on entend par opposition à la définition précédente, tout acide aminé n'entrant pas dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel. On entend plus particulièrement par "acide aminé non protéinogénique", tout acide aminé dont le carbone portant la chaîne latérale R, à savoir le groupe -CHR- , situé entre -CO- et -NH- dans la chaîne peptidique naturelle, est remplacé par un motif n'entrant pas dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel.

L'invention a plus particulièrement pour objet les séquences dérivées telles que décrites ci-dessus, caractérisés en ce que l'une au moins des liaisons peptidiques -CO-NH- de la chaîne peptidique du peptide parent est remplacée par une liaison différente de la liaison -CO-NH- , ladite liaison différente étant notamment choisie parmi les suivantes :

| | | |
|----|---|--------------------------|
| 15 | $\text{-CH}_2\text{-NH-}$ | (méthylène amino) ; |
| | $\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ | (carba) ; |
| | $\text{-CO-CH}_2\text{-}$ | (cétométhylène) ; |
| | $\text{-CH}_2\text{-O-}$ | (méthylène-oxy) ; |
| | $\text{-CHOH-CH}_2\text{-}$ | (hydroxyéthylène) ; |
| 20 | -CHOH-CHOH- | (di-hydroxyéthylène) ; |
| | -CH=CH- | (E ou Z oléfine) ; |
| | -CHCN-NH- | (cyanométhylène amino) ; |
| | $\text{-S-CH}_2\text{-}$ | (thiométhylène) ; |
| | $\text{-CH}_2\text{-S-}$ | (méthylène thio) ; |
| 25 | -CS-NH- | (thioamide) ; |
| | $\text{-PO}_2\text{-NH-}$ | (phosphonamide) ; |
| | -CHOH- | (hydroxyméthylène) ; |
| | -NH-CO-NH- | (urée) ; |
| 30 | -CH-CH-  | (oxirane) ; |



(tétrazole) ;



(β-homologation) ;



(hydroxyéthylène amino) ;



(hydrazino).

L'invention concerne également les séquences nucléotidiques codant pour les fragments protéiques polyépitopiques ou pour les séquences peptidiques dérivées susmentionnés.

L'invention a également pour objet tout vecteur, notamment plasmide, cosmide ou phage, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée placée sous le contrôle des éléments nécessaires à la transcription de ladite séquence, notamment sous le contrôle d'un promoteur et d'un terminateur de transcription.

L'invention concerne également les cellules hôtes, notamment bactéries, virus, levures, cellules eucaryotes, transformées à l'aide d'un vecteur susmentionné selon l'invention, de manière à intégrer de façon stable dans leur génome ou à maintenir de manière stable dans leur cytoplasme, au moins une séquence nucléotidique selon l'invention.

L'invention concerne également tout vecteur comprenant un ou plusieurs fragments polypéptopiques et/ou une ou plusieurs séquences peptidiques dérivées tels que définis ci-dessus, ou tout vecteur comprenant une ou plusieurs séquences nucléotidiques susmentionnées, lesdits vecteurs étant choisis parmi ceux capables d'assurer une protection desdits fragments ou séquences nucléotidiques dans l'organisme et/ou leur pénétration dans les cellules de l'organisme.

Dans le cas de l'utilisation de fragments polyépitopiques et/ou de séquences peptidiques dérivées susmentionnés, de tels vecteurs sont choisis parmi les acides gras (dans le cadre de la préparation de lipopeptides), les liposomes etc.

A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide caractérisé en ce qu'il comprend:

- une partie peptidique comprenant un ou plusieurs fragments protéiques polyépitopiques choisis parmi ceux définis ci-dessus, ou toute séquence peptidique dérivée desdits fragments telle que définie ci-dessus,

- et une ou plusieurs parties lipophiles, avantageusement choisies parmi celles comprenant :

* une chaîne hydrocarbonée en C4 à C20, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée,

* ou un groupe stéroïde, le cas échéant lié à la chaîne hydrocarbonée susmentionnée,

lesdites parties lipophiles étant éventuellement associées à un court peptide vecteur (pour former ainsi des motifs lipopeptidiques vecteurs) comportant une ou plusieurs fonctions ionisées à pH physiologique, et une fonction permettant la fixation covalente de ladite chaîne hydrocarbonée et/ou dudit groupe stéroïde.

Par partie lipophile, dans ce qui précède et ce qui suit, on entend toute molécule lipophile, insoluble dans l'eau, permettant, lorsqu'elle est liée à la partie peptidique définie ci-dessus, un passage intracellulaire passif du lipopeptide obtenu, grâce aux propriétés hydrophobes de ladite molécule. Avantageusement le lipopeptide résultant de la liaison de la partie lipophile à la partie peptidique, est soluble dans l'eau.

De préférence, la chaîne hydrocarbonée des parties lipophiles, est choisie parmi celles de :

- l'acide palmitique,
- l'acide oléique,
- l'acide linoléique,
- l'acide linolénique.

De préférence également, le groupe stéroïde de la ou des parties lipophiles, est choisi parmi les dérivés du cholestérol tel que l'acide cholest-5-ényl-3-oxy acétique, ou l'acide cholest-5-ényl-3-oxycarbonique.

L'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide tel que décrit ci-dessus, caractérisé en ce que la ou les parties lipophiles sont liées de façon covalente à un ou plusieurs acides aminés de la partie peptidique.

Avantageusement, la ou les parties lipophiles sont liées de façon covalente à la fonction αNH_2 ou ϵNH_2 d'une lysine située en position N-terminale ou C-terminale de

la partie peptidique, ou à la fonction thiol d'une cystéine, ou à toute fonction amino, alcool ou thiol éventuellement ajoutée au peptide avec un espaceur simple.

A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide tel que défini ci-dessus, dans lequel la ou les parties lipophiles sont représentées par un groupe

5 N^α-acétyl-Lysine N^ε(palmitoyl) (encore désigné par l'abréviation Ac-K(Pam)).

La présente invention a également pour objet, des micelles ou micro-agrégats d'un ou plusieurs lipopeptides différents définis ci-dessus.

Avantageusement, lesdits micelles ou micro-agrégats ont une taille inférieure à environ 1 μm.

10 De préférence, les micelles ou micro-agrégats selon l'invention, sont tels qu'obtenus par dispersion desdits lipopeptides dans une solution d'acide acétique concentrée à environ 80%, ou tout autre solvant capable d'assurer une dispersion moléculaire des lipopeptides en solution.

Dans le cas de l'utilisation de séquences nucléotidiques définies ci-dessus selon 15 l'invention, les vecteurs susmentionnés sont choisis parmi les virus, notamment les rétrovirus, les adénovirus et les virus associés (AAV Adeno Associated Virus).

L'invention a également pour objet l'utilisation :

- d'au moins un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou d'au moins un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, tels que définis ci-dessus,

20 - et/ou d'au moins une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

- ou d'au moins une séquence nucléotidique, telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou pour un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, et/ou pour une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus,

25 pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement de pathologies liées à l'infection d'individus par les papillomavirus humains, lesdites pathologies étant notamment les suivantes : les néoplasies cervicales intraépithéliales (CIN), le cancer invasif du col de l'utérus, les néoplasies vulvaires intraépithéliales (VIN).

30 A ce titre, l'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou au moins un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, tels que définis ci-dessus,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

5 - et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, notamment des lipopeptides et/ou micelles définis ci-dessus, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7 d'HPV, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

10 ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires (encore désignés épitopes CD4 ou T helper), lesdits épitopes étant choisis notamment parmi les suivants :

- le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 15 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, ledit fragment répondant à la formule suivante : QYIKANSKFIGITELKK,

- l'hémagglutinine (Prevost-Blondel et al., 1995, J. Virol., 62, n°12, pp 8046-8055),

- l'épitope PADRE (Alexander et al., 1994, Immunity, 1, 751).

20 L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

- au moins une séquence nucléotidique codant pour un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou pour un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, telle que définie ci-dessus,

25 - et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus définis ci-dessus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable.

30 Avantageusement les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, susmentionnés, se présentent sous une forme administrable par voie sous-cutanée, notamment à raison de plusieurs injections (avantageusement 3 injections) d'environ 500 µg du fragment polyépitopique sous forme lipopeptidique, à environ un mois d'intervalle.

L'invention a également pour objet l'utilisation :

- d'au moins un fragment polyépitopique de la protéine p53, choisi parmi ceux définis ci-dessus,

- et/ou d'au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

5 - ou d'au moins une séquence nucléotidique, telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine p53, et/ou pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, tels que définis ci-dessus,

10 pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement des cancers, notamment les cancers du sein, du colon, du poumon, ou de la vessie.

A ce titre, l'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine p53, tel que défini ci-dessus,

15 - et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles définis ci-dessus, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine p53, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ce fragment,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

20 ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires choisis notamment parmi ceux décrits ci-dessus.

L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

25 - au moins une séquence nucléotidique codant pour un fragment polyépitopique de la protéine p53, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

30 - et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus définis ci-dessus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable.

Avantageusement les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, susmentionnés, se présentent sous une forme administrable par voie sous-cutanée ou intra-musculaire, notamment à raison de plusieurs injections (avantageusement 3 injections) d'environ

500 µg du fragment polyépitopique sous forme lipopeptidique, à environ un mois d'intervalle.

L'invention a également pour objet l'utilisation :

- d'au moins un fragment polyépitopique de la protéine Nef de HIV, choisi parmi ceux définis ci-dessus, le cas échéant en association avec un ou plusieurs fragments polyépitopiques d'autres protéines, que la protéine Nef, du virus HIV, notamment d'un ou plusieurs fragments polyépitopiques de la protéine GAG et/ou POL et/ou ENV et/ou RT,

- et/ou d'au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus, le cas échéant en association avec un ou plusieurs fragments polyépitopiques d'autres protéines susmentionnées,

- ou d'au moins une séquence nucléotidique, telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine Nef de HIV, et/ou pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, tels que définis ci-dessus,

pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement du SIDA.

A ce titre, l'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine Nef, tel que défini ci-dessus,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles définis ci-dessus, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine Nef, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ce fragment,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires choisis notamment parmi ceux décrits ci-dessus.

L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou les vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

- au moins une séquence nucléotidique codant pour un fragment polyépitopique de la protéine Nef, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus définis ci-dessus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable.

Avantageusement, les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, susmentionnés, se présentent sous une forme administrable par voie sous-cutanée ou intra-musculaire, notamment à raison de plusieurs injections (avantageusement 3 injections) d'environ 500 µg du fragment polyépitopique sous forme lipopeptidique, à environ un mois d'intervalle.

L'invention a également pour objet les peptides de la protéine E6 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (33)ILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (46)RREVYDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (87)CYRLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, B51,
- (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,
- (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNIR(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (131)RFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

L'invention concerne également les peptides de la protéine E7 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (2)GGDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1,
- (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- 5 - (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (15)LQPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, B18,
- (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (53)NIVTFCKK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- 10 - (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11.

L'invention a également pour objet les peptides de la protéine p53 choisis parmi les suivants :

- (102)TYQGSYGFR(111) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- 15 - (106)SYGFR(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (118)TAKSVTCTY(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (125)TYSPALNKMF(134) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (152)PPGTRVRAM(160) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (155)TRVRAMAIYK(164) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 20 - (156)RVRAMAIY(163) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (162)IYKQSQHM(169) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (197)VEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (201)LRVEYLDDR(209) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (203)VEYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- 25 - (204)EYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (211)TFRHSVVV(218) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (212)FRHSVVVPY(220) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (226)GSDCTTIHY(234) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1,
- (227)SDCTTIHYN(236) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- 30 - (235)NYMCNSSCM(243) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (249)RPILTITL(257) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (257)LEDSSGNLL(265) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (263)NLLGRNSF(270) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (266)GRNSFEVR(273) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27.

L'invention concerne également les peptides de la protéine Nef d'HIV choisis parmi les suivants :

- (71)TPQVPLRPM(79) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (86)DLSHFLKEK(94) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3,
- 5 - (90)FLKEKGGL(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B8,
- (133)VRYPLTFGW(141) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A32, B27,
- (188)RLAFHHVAR(196) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3.

L'invention concerne également les séquences peptidiques dérivées des peptides susmentionnés, lesdites séquences dérivées, ou analogues, étant telles que définies ci-dessus dans le cadre des séquences dérivées des fragments protéiques polyépitopiques susmentionnés.

L'invention a également pour objet les anticorps dirigés contre les fragments protéiques polyépitopiques ou les épitopes ou leurs analogues tels que définis ci-dessus, lesdits anticorps étant tels qu'obtenus par immunisation d'un animal avec au moins un des complexes susmentionnés, lesdits anticorps étant susceptibles de former un complexe avec ces fragments polyépitopiques ou ces épitopes ou leurs analogues.

Les anticorps selon l'invention sont des anticorps polyclonaux ou monoclonaux.

Les anticorps polyclonaux susmentionnés sont obtenus par immunisation d'un animal avec au moins un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention, suivie de la récupération des anticorps recherchés sous forme purifiée, par prélèvement du sérum dudit animal, et séparation desdits anticorps des autres constituants du sérum, notamment par chromatographie d'affinité sur une colonne sur laquelle est fixée un antigène spécifiquement reconnu par les anticorps, notamment un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention.

Les anticorps monoclonaux selon l'invention peuvent être obtenus par la technique des hybridomes dont le principe général est rappelé ci-après.

Dans un premier temps, on immunise un animal, généralement une souris, (ou des cellules en culture dans le cadre d'immunisations *in vitro*) avec un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention, contre lesquels les lymphocytes B de l'animal sont alors capables de produire des anticorps. Ces lymphocytes producteurs d'anticorps sont ensuite fusionnés avec des cellules myélomateuses "immortelles" (notamment murines) pour donner lieu à des hybridomes. A partir du mélange hétérogène des cellules ainsi obtenu, on effectue alors une sélection

des cellules capables de produire un anticorps particulier et de se multiplier indéfiniment. Chaque hybridome est multiplié sous la forme de clones, chacun conduisant à la production d'un anticorps monoclonal dont les propriétés de reconnaissance vis-à-vis du fragment protéique polyépitopique ou épitope ou analogue de l'invention pourront être testées par exemple en ELISA, par immunotransfert en une ou deux dimensions, en immunofluorescence, ou à l'aide d'un biocapteur. Les anticorps monoclonaux ainsi sélectionnés, sont par la suite purifiés notamment selon la technique de chromatographie d'affinité décrite ci-dessus.

L'invention a également pour objet toute composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs anticorps tels que définis ci-dessus, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable, ainsi que leur utilisation dans le cadre du traitement des pathologies susmentionnées.

L'invention concerne également l'utilisation d'un ou plusieurs anticorps susmentionnés pour la mise en œuvre d'une méthode de diagnostic *in vitro* des pathologies susmentionnées.

A ce titre l'invention a également pour objet des troussees ou kits comprenant lesdits anticorps, pour la mise en œuvre d'une méthode de diagnostic telle que définie ci-dessus.

L'invention a également pour objet tout procédé de préparation de fragments polyépitopiques, d'épitopes simples (peptides susmentionnés), ou de séquences dérivées, par synthèse peptidique classique en phase liquide ou en phase solide.

En variante, les fragments polyépitopiques, épitopes simples, ou séquences peptidiques dérivées, tels que définis ci-dessus selon l'invention, peuvent être obtenus sous forme de polypeptides recombinants par transformation de cellules hôtes appropriées telles que définies ci-dessus à l'aide de vecteurs contenant une séquence nucléotidique recombinante telle que définie ci-dessus selon l'invention, et récupération, le cas échéant après purification, du polypeptide recombinant codé par ladite séquence nucléotidique et produit par les cellules hôtes susmentionnées.

REVENDEICATIONS

1. Utilisation de fragments polyépitopiques d'une protéine déterminée pour la
préparation de médicaments destinés à la prévention ou au traitement de pathologies
dans lesquelles ladite protéine est reconnue par le système immunitaire cellulaire,
lesdits fragments polyépitopiques étant tels que leur acide aminé N-terminal correspond
à l'acide aminé N-terminal de l'épitope situé en amont d'un ou plusieurs autres épitopes
d'une région polyépitopique de ladite protéine, et leur acide aminé C-terminal
correspond à l'acide aminé C-terminal de l'épitope situé en aval du ou des épitopes
susmentionnés de ladite région polyépitopique.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que :

- les fragments protéiques polyépitopiques correspondent aux régions
polyépitopiques sélectionnées parmi celles ayant la caractéristique d'être dégradées *in*
vitro en peptides plus courts par des protéasomes, lorsque le fragment protéique testé est
mis en présence dudit protéasome,

- les différents épitopes de la région polyépitopique de la protéine déterminée, et
délimitant les fragments protéiques polyépitopiques, sont sélectionnés parmi les
peptides se liant à une molécule déterminée du CMH, notamment une molécule de type
HLA déterminé, et formant un complexe stable avec cette molécule du CMH.

3. Fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV, choisis parmi ceux
comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la
séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique
suivante:

(15)RPRKLPQLCTELQTTIHDILECVYCKQQL(44)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA
de type A2, A11, A29, B7, B8, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 62, ou aux
positions 46 et 67, ou aux positions 46 et 77 de la séquence peptidique de la protéine
E6, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(46)RREVYDFAFRDLCIVYRDGNPYAVCDKCLKFY(77)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, A24, A29, B7, B27, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(80)ISEYRHYCYRLYGTTLEQQYNKPLCDLLI(108)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A3, A11, A24, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la séquence peptidique de la protéine E6, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(118)CPEEKQRHLDKKQRFHNIRGRW(139)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24, B8, B18, B27, B35, B44, ou B51,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudo-peptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

4. Fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 2 et 25 de la séquence peptidique de la protéine E7, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(2)GGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCY(25)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, B18, B35, B44, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la séquence peptidique de la protéine E7, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(44)QAEPDRAHYNIVTFCK(60)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A3, A11, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la séquence peptidique de la protéine E7, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(79)LEDLLMGTLGIVCPICSQK(97)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, A29, ou B44,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

(5) Fragments polyépitopiques de la protéine p53 humaine, surexprimée dans de nombreux type de cancers, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 106 et 137, ou aux positions 102 et 137 de la séquence peptidique de la protéine p53, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(102)TYQGSYGFRLLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQL(137)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A24, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 149 et 169 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(149)STPPPGTRVRAMAIYKQSQHM(169)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A24, B27, B35, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 187 et 212, ou aux positions 187 et 220 de la séquence peptidique de la protéine p53, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(187)GLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVPY(220)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A24, B27, ou B44,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 226 et 243 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(226)GSDCTTIHYNMCSNCSM(243)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A24, ou B44,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 249 et 273 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(249)RPILTITLEDSSGNLLGRNSFEVR(273)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B27, B35, B44, ou B62,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudo-peptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

6. Fragments polyépitopiques de la protéine Nef de HIV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 68 et 97 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(68)FPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL(97)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, B7, B8, B14, B35, B62, ou Cw8,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 116 et 145, ou aux positions 105 et 145 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(105)RRQDILDLWIYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWICYKL(145)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A24, A32, B7, B18, B27, B35, B37, B49, B57/58, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 180 et 203 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(180)VLEWRFD SRLAFHHVARELHPEY(202)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A3, B8, B35, ou B52,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

7. Séquences nucléotidiques codant pour un fragment polyépitopique ou pour une séquence peptidique dérivée selon l'une des revendications 3 à 6.

8. Anticorps, polyclonaux ou monoclonaux, dirigés contre un fragment polyépitopique ou contre une séquence peptidique dérivée selon l'une des revendications 3 à 6.

9. Composition pharmaceutique, ou vaccin, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV défini dans la revendication 3, et/ou au moins un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV défini dans la revendication 4,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie dans la revendication 3 ou 4,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7 d'HPV, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires, tels que le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, l'hémagglutinine, ou l'épitope PADRE,

* b)

- au moins une séquence nucléotidique selon la revendication 7, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou pour un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, susmentionnés,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ces fragments, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- des anticorps selon la revendication 8, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine E6 d'HPV, et/ou contre un fragment polyépitopique de la protéine E7 d'HPV, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus.

10. Composition pharmaceutique, ou vaccin, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine p53 défini dans la revendication 5,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie dans la revendication 5,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine p53, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires, tels que le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, l'hémagglutinine, ou l'épitope PADRE,

* b)

- au moins une séquence nucléotidique selon la revendication 7, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine p53 susmentionné,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- des anticorps selon la revendication 8, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine p53, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus.

11. Composition pharmaceutique, ou vaccin, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine Nef défini dans la revendication 6,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie dans la revendication 6,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine Nef, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires, tels que le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, l'hémagglutinine, ou l'épitope PADRE,

* b)

- au moins une séquence nucléotidique selon la revendication 7, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine Nef susmentionné,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- des anticorps selon la revendication 8, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine Nef, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus.

12. Epitopes de la protéine E6 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- 5 - (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (33)IILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (46)RREVYDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 10 - (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- 15 - (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (87)CYRLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, B51,
- 20 - (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,
- (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNIR(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 25 - (131)RFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

13. Epitopes de la protéine E7 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (2)GGDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1,
- (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- 30 - (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (15)LPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, B18,
- (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (53)NIVTFCK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,

- (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11.

14. Epitopes de la protéine p53 choisis parmi les suivants :

- 5 - (102)TYQGSYGFR(111) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (106)SYGFR(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (118)TAKSVTCTY(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (125)TYSPALNKMF(134) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (152)PPGTRVRAM(160) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- 10 - (155)TRVRAMAIYK(164) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (156)RVRAMAIY(163) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (162)IYKQSQHM(169) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (197)VEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (201)LRVEYLDDR(209) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 15 - (203)VEYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (204)EYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (211)TFRHSV(218) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (212)FRHSVVPY(220) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (226)GSDCTTIHY(234) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1,
- 20 - (227)SDCTTIHYN(236) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (235)NYMCNSSCM(243) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (249)RPILTITL(257) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (257)LEDSSGNLL(265) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (263)NLLGRNSF(270) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- 25 - (266)GRNSFEVR(273) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27.

15. Epitopes de la protéine Nef d'HIV choisis parmi les suivants :

- (71)TPQVPLRPM(79) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (86)DLSHFLKEK(94) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3,
- 30 - (90)FLKEKGGL(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B8,
- (133)VRYPLTFGW(141) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A32, B27,
- (188)RLAFHHVAR(196) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3.

REVENDECATIONS

1. Utilisation de fragments polyépitopiques de la protéine Nef de HIV, choisis
5 parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 68 et 97 de la
séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique
suivante:

(68)FPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL(97)

10 ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA
de type A2, A3, A11, B7, B8, B14, B35, B62, ou Cw8,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 116 et 145, ou
aux positions 105 et 145 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant
caractérisé par la séquence peptidique suivante:

15 (105)RRQDILDLWIYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWCCYKL(145)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA
de type A1, A2, A24, A32, B7, B18, B27, B35, B37, B49, B57/58, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 180 et 203 de la
séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique
20 suivante:

(180)VLEWRFDLSRLAFHHVARELHPEY(202)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA
de type A1, A2, A3, B8, B35, ou B52,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques
25 susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides
aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne
peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du
type rétro, ou rétro-inverso, et/ou
30

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la
séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent,

pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement du SIDA.

2. Fragments polyépitopiques de la protéine Nef de HIV, choisis parmi ceux comprenant :

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 68 et 97 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(68)FPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL(97)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, A3, A11, B7, B8, B14, B35, B62, ou Cw8,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 116 et 145, ou aux positions 105 et 145 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(105)RRQDILDLWIYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWCYKL(145)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A24, A32, B7, B18, B27, B35, B37, B49, B57/58, ou B62,

- le fragment délimité par les acides aminés situés aux positions 180 et 203 de la séquence peptidique de la protéine Nef, et étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(180)VLEWRFD SRLAFHHVARELHPEY(202)

ledit fragment contenant des peptides se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, A2, A3, B8, B35, ou B52,

- les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

3. Séquences nucléotidiques codant pour un fragment polyépitopique ou pour une séquence peptidique dérivée selon la revendication 2.

4. Anticorps, polyclonaux ou monoclonaux, dirigés contre un fragment polyépitopique ou contre une séquence peptidique dérivée selon la revendication 2.

5. Composition pharmaceutique, ou vaccin, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine Nef défini dans la revendication 2,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie dans la revendication 2,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine Nef, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires, tels que le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, l'hémagglutinine, ou l'épitope PADRE,

* ou b)

- au moins une séquence nucléotidique selon la revendication 3, codant pour un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine Nef,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,
en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- 5 - des anticorps selon la revendication 4, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine Nef, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus.

6. Epitopes de la protéine Nef d'HIV choisis parmi les suivants :

- 10 - (71)TPQVPLRPM(79) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (90)FLKEKGGL(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (133)VRYPLTFGW(141) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A32, B27,
- (188)RLAFHHVAR(196) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3.

THIS PAGE BLANK (USPTO)